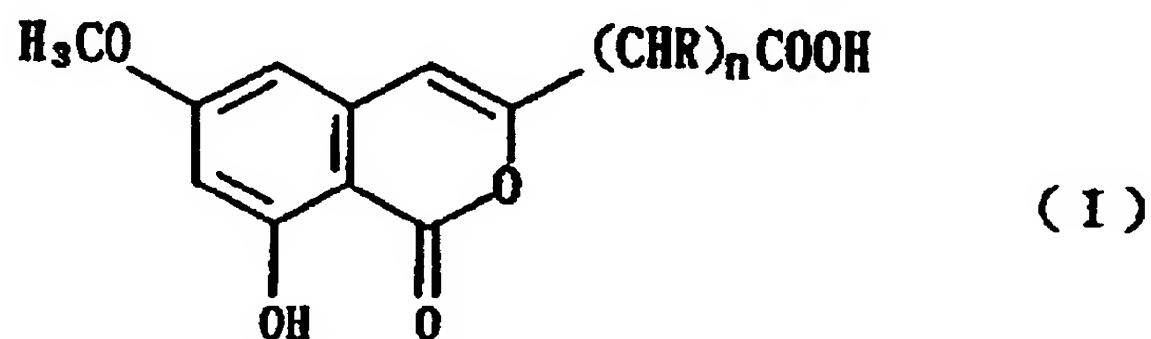




<p>(51) 国際特許分類6 C07D 311/76, A61K 31/35</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO97/48693</p> <p>(43) 国際公開日 1997年12月24日(24.12.97)</p>		
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="192 494 1146 1442"> <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP96/01657</p> <p>(22) 国際出願日 1996年6月17日(17.06.96)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) メルシャン株式会社(MERCIAN CORPORATION)[JP/JP] 〒104 東京都中央区京橋一丁目5番8号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 平野伸一(HIRANO, Shin-ichi)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市本村5丁目8番1-207 Kanagawa, (JP) 間瀬俊之(MASE, Toshiyuki)[JP/JP] 〒438 静岡県磐田市中泉1797 メルシャンアパート111号 Shizuoka, (JP) 縣 直樹(AGATA, Naoki)[JP/JP] 〒251 神奈川県藤沢市片瀬海岸1-8-22-401 Kanagawa, (JP) 井口博史(IGUCHI, Hiroshi)[JP/JP] 〒240 神奈川県横浜市保土ヶ谷区桜ヶ丘1-37-10 Kanagawa, (JP) 松本直樹(MATSUMOTO, Naoki)[JP/JP] 〒233 神奈川県横浜市港南区日限山4-52-11 Kanagawa, (JP) 吉岡武男(YOSHIOKA, Takeo)[JP/JP] 〒252 神奈川県綾瀬市吉岡1782-10 Kanagawa, (JP)</p> </td> <td data-bbox="1146 494 2107 1442"> <p>刀根 弘(TONE, Hiroshi)[JP/JP] 〒236 神奈川県横浜市金沢区並木3-7-4-1003 Kanagawa, (JP) 熊谷博行(KUMAGAI, Hiroyuki)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市浜須賀11-5 Kanagawa, (JP) 石塚雅章(ISHIZUKA, Masaaki)[JP/JP] 〒411 静岡県三島市西若町6番5号 Shizuoka, (JP) 竹内富雄(TAKEUCHI, Tomio)[JP/JP] 〒141 東京都品川区東五反田5-1-11 701-A Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 小田島平吉, 外(ODAJIMA, Heikichi et al.) 〒107 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自転車会館 小田島特許事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO特許 (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP96/01657</p> <p>(22) 国際出願日 1996年6月17日(17.06.96)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) メルシャン株式会社(MERCIAN CORPORATION)[JP/JP] 〒104 東京都中央区京橋一丁目5番8号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 平野伸一(HIRANO, Shin-ichi)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市本村5丁目8番1-207 Kanagawa, (JP) 間瀬俊之(MASE, Toshiyuki)[JP/JP] 〒438 静岡県磐田市中泉1797 メルシャンアパート111号 Shizuoka, (JP) 縣 直樹(AGATA, Naoki)[JP/JP] 〒251 神奈川県藤沢市片瀬海岸1-8-22-401 Kanagawa, (JP) 井口博史(IGUCHI, Hiroshi)[JP/JP] 〒240 神奈川県横浜市保土ヶ谷区桜ヶ丘1-37-10 Kanagawa, (JP) 松本直樹(MATSUMOTO, Naoki)[JP/JP] 〒233 神奈川県横浜市港南区日限山4-52-11 Kanagawa, (JP) 吉岡武男(YOSHIOKA, Takeo)[JP/JP] 〒252 神奈川県綾瀬市吉岡1782-10 Kanagawa, (JP)</p>	<p>刀根 弘(TONE, Hiroshi)[JP/JP] 〒236 神奈川県横浜市金沢区並木3-7-4-1003 Kanagawa, (JP) 熊谷博行(KUMAGAI, Hiroyuki)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市浜須賀11-5 Kanagawa, (JP) 石塚雅章(ISHIZUKA, Masaaki)[JP/JP] 〒411 静岡県三島市西若町6番5号 Shizuoka, (JP) 竹内富雄(TAKEUCHI, Tomio)[JP/JP] 〒141 東京都品川区東五反田5-1-11 701-A Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 小田島平吉, 外(ODAJIMA, Heikichi et al.) 〒107 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自転車会館 小田島特許事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO特許 (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP96/01657</p> <p>(22) 国際出願日 1996年6月17日(17.06.96)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) メルシャン株式会社(MERCIAN CORPORATION)[JP/JP] 〒104 東京都中央区京橋一丁目5番8号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 平野伸一(HIRANO, Shin-ichi)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市本村5丁目8番1-207 Kanagawa, (JP) 間瀬俊之(MASE, Toshiyuki)[JP/JP] 〒438 静岡県磐田市中泉1797 メルシャンアパート111号 Shizuoka, (JP) 縣 直樹(AGATA, Naoki)[JP/JP] 〒251 神奈川県藤沢市片瀬海岸1-8-22-401 Kanagawa, (JP) 井口博史(IGUCHI, Hiroshi)[JP/JP] 〒240 神奈川県横浜市保土ヶ谷区桜ヶ丘1-37-10 Kanagawa, (JP) 松本直樹(MATSUMOTO, Naoki)[JP/JP] 〒233 神奈川県横浜市港南区日限山4-52-11 Kanagawa, (JP) 吉岡武男(YOSHIOKA, Takeo)[JP/JP] 〒252 神奈川県綾瀬市吉岡1782-10 Kanagawa, (JP)</p>	<p>刀根 弘(TONE, Hiroshi)[JP/JP] 〒236 神奈川県横浜市金沢区並木3-7-4-1003 Kanagawa, (JP) 熊谷博行(KUMAGAI, Hiroyuki)[JP/JP] 〒253 神奈川県茅ヶ崎市浜須賀11-5 Kanagawa, (JP) 石塚雅章(ISHIZUKA, Masaaki)[JP/JP] 〒411 静岡県三島市西若町6番5号 Shizuoka, (JP) 竹内富雄(TAKEUCHI, Tomio)[JP/JP] 〒141 東京都品川区東五反田5-1-11 701-A Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 小田島平吉, 外(ODAJIMA, Heikichi et al.) 〒107 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自転車会館 小田島特許事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO特許 (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>			
<p>(54) Title: ISOCOUMARIN DERIVATIVES AND USE THEREOF IN DRUGS</p> <p>(54) 発明の名称 イソクマリン誘導体およびその医薬への使用</p> <p>(57) Abstract Compounds represented by general formula (I) and medicinal compositions thereof, wherein R represents hydrogen or C₁₋₆ alkyl; and n is an integer of 0 or 1. These medicinal compositions are usable in the prevention or treatment of diseases accompanying immunomodulatory abnormalities or neovascularization.</p> <div style="text-align: center;"> <p>(I)</p> </div>				

(57) 要約

下記式 (I)



(上式中、R は水素原子または C₁₋₆アルキル基を表し、
n は整数 0 または 1 である)

で表される化合物およびそれらの医薬製剤が提供される。これらの
医薬製剤は、免疫調節作用の異常または血管新生に随伴する疾患の
予防または治療に使用できる。

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シエラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・エルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャード
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴス	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ		ラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	ML	マリ	TR	トルコ
BR	ブラジル	ID	インドネシア	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IL	イスラエル	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CF	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	MX	メキシコ	US	米国
CG	コンゴ	IT	イタリア	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	JP	日本	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CI	コート・ジボアール	KE	ケニア	NO	ノルウェー	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン	KG	キルギスタン	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KR	大韓民国	PT	ポルトガル		
CZ	チェッコ共和国	KZ	カザフスタン	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	LC	セントルシア	RU	ロシア連邦		
DK	デンマーク	LI	リヒテンシュタイン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LK	スリランカ	SE	スウェーデン		

明 細 書

イソクマリン誘導体およびその医薬への使用

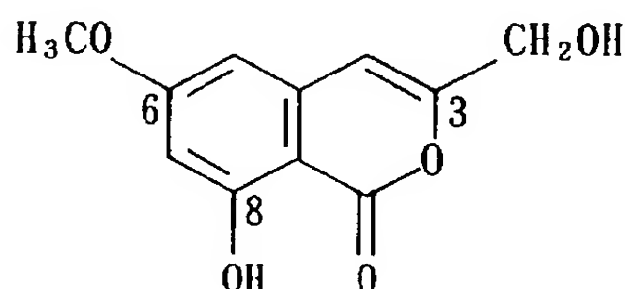
技術分野

- 5 本発明はイソクマリン誘導体および医薬への使用に関し、より具体的には免疫調節作用の異常または血管新生に随伴する疾患の予防または治療へのイソクマリン誘導体の使用に関する。

背景技術

イソクマリン誘導体、特に式

10



- で表される、3-ヒドロキシメチル-6-メトキシ-8-ヒドロキシ-
 15 1H-2-ベンゾピラン-1-オンは、ストレプトバーチシリウム ユーロシディウム (*Streptoverticillium eurocidicum*) が産生する化合物として、初めて見いだされ、各種動物細胞および人癌細胞に対する増殖阻害活性を示す抗生物質MI 43-37F 11として注目されている
 (特開平3-2177号)。その後、前記抗生物質MI 43-37F 1
 20 1 (以下、MI 43と略記する) の化学合成方法について研究され、イソクマリン骨格の3位にベンジルオキシメチルやハロゲンメチル基のような脱離基含有メチル基を有するイソクマリン誘導体等が中間体として、
 (特開平4-112884号)、また前記の3位に式 $\begin{array}{c} \text{R}_3 \\ \diagup \\ \text{---} \\ \diagdown \\ \text{R}_4 \end{array}$ (ここで、R₃およびR₄は各々独立に置換または未置換アルキル基、アルコキ

シ、アルカノイルオキシ、モノーもしくはジ置換アミノ、フェニルチオ、またはN₃などの基を有するイソクマリン誘導体がMI 43と同様な薬理活性を示す化合物として（特開平5-97841号）提供されてきた。

5 一方、MI 43は、経口投与でラットのアジュバント関節炎およびマウスのコラーゲン誘発関節炎を有意に抑制することから、免疫調節剤としての使用も提案されている（特開平6-183966号）。しかし、MI 43は免疫調節剤としてかなりの有効性を示すものの、さらに有効な化合物または医薬の提供に対するニーズは依然として存在するであろう。

10 従来より自己免疫疾患の治療に使用されているステロイドホルモン剤、金製剤、D-ペニシラミン、レバミゾール、サラゾスルファピリジンなどの薬剤は、副腎機能不全、感染症、腎障害、造血障害または胃腸障害など、時として重篤な副作用を起こすので、使用にあたって大きな制約となっている。

15 このような背景の下、本発明の目的は、副作用が低く、ヒトをはじめとする哺乳動物における効能、殊に、生物学的利用能(bioavailability)に優れた医薬製剤を提供することにある。

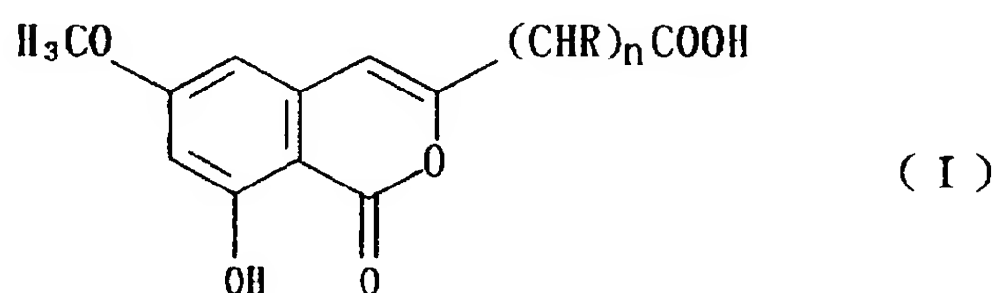
発明の開示

20 本発明者らは、上記の目的を達成すべく、各種イソクマリン誘導体の薬理作用および生物学的利用能について研究してきた。その結果、MI 43の3位におけるヒドロキシメチルに代わり、その3位に直接カルボキシル基が結合しているか、あるいはメチレンもしくはメチンを介してカルボキシル基が結合しているイソクマリン誘導体が、例えば、MI 4

3に優るとも劣らない免疫調節作用を示すとともに、低毒性でかつ、極めて優れた生物学的利用能を示すことを見い出した。さらに、このような特性を有する化合物は、驚くべきことに、哺乳動物への経口投与において、生体内での高い安定性を示すことも見い出した。さらにまた、前記化合物は、哺乳動物における血管新生を有意に抑制することも見い出した。なお、上記の3位にメチレンもしくはメチンを介してカルボキシル基が結合しているイソクマリン誘導体は、従来技術文献に未載の化合物である。

したがって本発明によれば、製薬学的に許容される助剤と、下記式

(I)



(上式中、Rは水素原子またはC₁₋₆アルキル基を表し、nは整数0または1である)

で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩の薬理的に有効量とを、含んでなる医薬製剤、特に、免疫調節作用の異常または血管新生に伴う疾患の予防または治療用の医薬製剤が提供される。

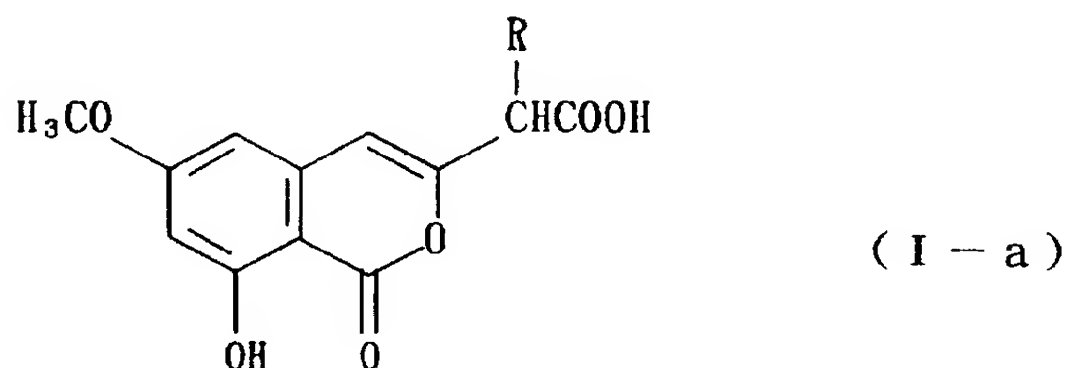
別の態様では、免疫調節作用の異常または血管新生に伴う疾患の予防または治療用の医薬製剤を調製するための、上記式(I)で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩の使用が提供される。

さらなる別の態様では、免疫調節作用の異常または血管新生に伴う疾患の予防または治療方法であって、上記式(I)で表される化合物

またはその製薬学的に許容される塩の薬理的に有効量を、ヒトをはじめとする哺乳動物に投与する工程を含んでなる方法が提供される。

また、上記式 (I) の化合物のうち、新規化合物である、下記式 (I-a)

5

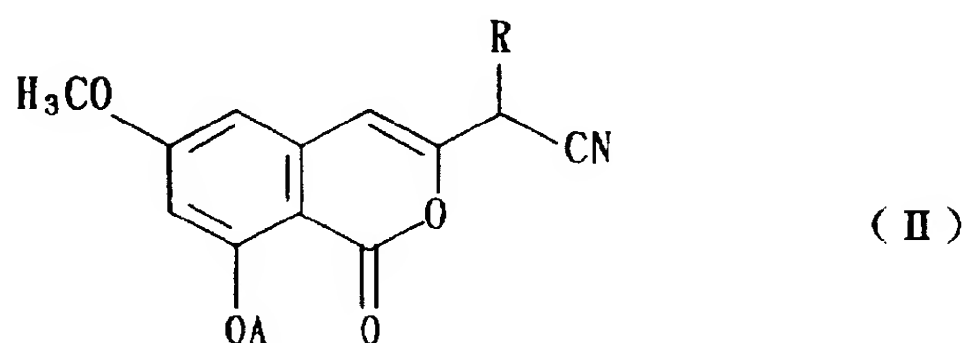


10 (上式中、Rは水素原子またはC₁₋₆アルキル基である)

で表される化合物またはその塩が提供される。

また、上記 (I-a) の化合物を製造するための合成中間体として、有利に使用できる、下記式 (II)

15



20 (上式中、Rは水素原子またはC₁₋₆アルキル基であり、そしてAは水素原子または保護基である)

で表される化合物も提供される。

図面の簡単な説明

図1は、本発明に従う化合物3をマウスに経口投与した場合の、血漿中における該化合物および代謝物の経時的な濃度変化を表すグラフであ

る。

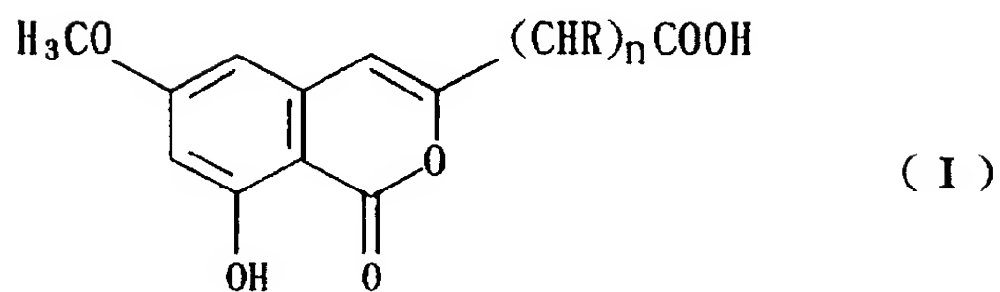
図2は、MI43（比較化合物）をマウスに経口投与した場合の、血漿中における該化合物および代謝物の経時的な濃度変化を表すグラフである。

5 発明の具体的な記述

本発明に従う、式（I）の化合物は、特に、イソクマリン骨格の3位に直接または単に炭素原子1個のメチレン（Rが水素原子である）もしくはメチン（RがC₁₋₆アルキル基である）を介して間接的にカルボキシル基が結合している点に特徴がある。ここで、RがC₁₋₆アルキル基である場合のアルキル基の具体的なものとしては、例えば、メチル、エチル、n-もしくはi s o-プロピル、n-、i s o-、s e c-もしくはt-ブチル、n-ペンチル、イソアミル、およびn-ヘキシル基などが挙げられる。式（I）の化合物は、Rが上記のようなアルキル基を有するとき、特に、生物学的利用能、例えば、生体内での安定性が高まり、経口投与においてもより有用性が高まる傾向がある。

本発明で利用できる具体的な化合物としては、次表で示されるものが例示できる。以下、本発明に従う化合物に言及する際には、それらの化合物番号を引用する場合がある。

表：化合物の具体例



5

10

15

化合物 No.	n	R
1	0	-
2	1	H
3	1	CH ₃
4	1	CH ₂ CH ₃
5	1	(CH ₂) ₂ CH ₃
6	1	(CH ₂) ₃ CH ₃
7	1	CH ₂ CH(CH ₃) ₂
8	1	(CH ₂) ₄ CH ₃
9	1	(CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂
10	1	(CH ₂) ₅ CH ₃
11	1	(CH ₂) ₃ CH(CH ₃) ₂

20

上記式 (I) の化合物は、そのカルボキシル基と塩基性化合物の塩形態で使用することができ、これらの塩としては本発明の目的に悪影響を及ぼさないものである限り、何如なる塩であってもよい。しかし、好ましくは、通常のカルボキシル基含有薬物の製薬学的に許容される塩を生成するのに用いられる塩基性化合物との塩が好ましい。限定されるものでないが、具体的な塩としては、リチウム、ナトリウムおよびカリウム

などのアルカリ金属、カルシウムおよびマグネシウムなどのアルカリ土類金属、ならびにメチルアミン、エチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピペラジンおよびピペリジンなどの有機塩基との塩が挙げられる。

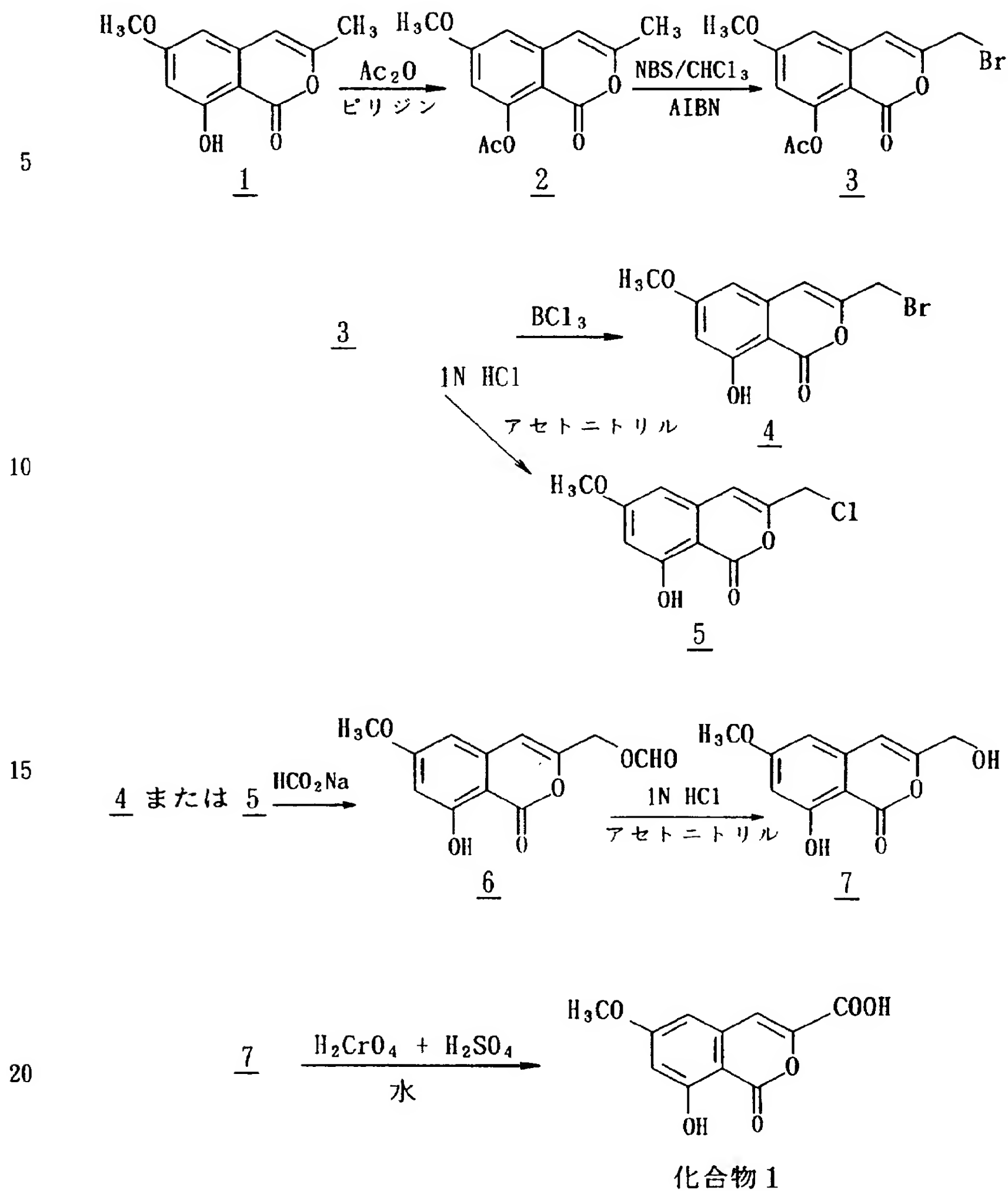
- 5 本発明に従う化合物のうち、化合物 1 は、アスペルギルス オクラセウス (Aspergillus ochraceus) 由来の代謝物として単離されている既知化合物 (Yamazaki, et al., Chem. Pharm. Bull. 20 (10) 2276-2278 (1972)) であるが、例えば、下記反応スキーム I に従って製造することもできる。

10

15

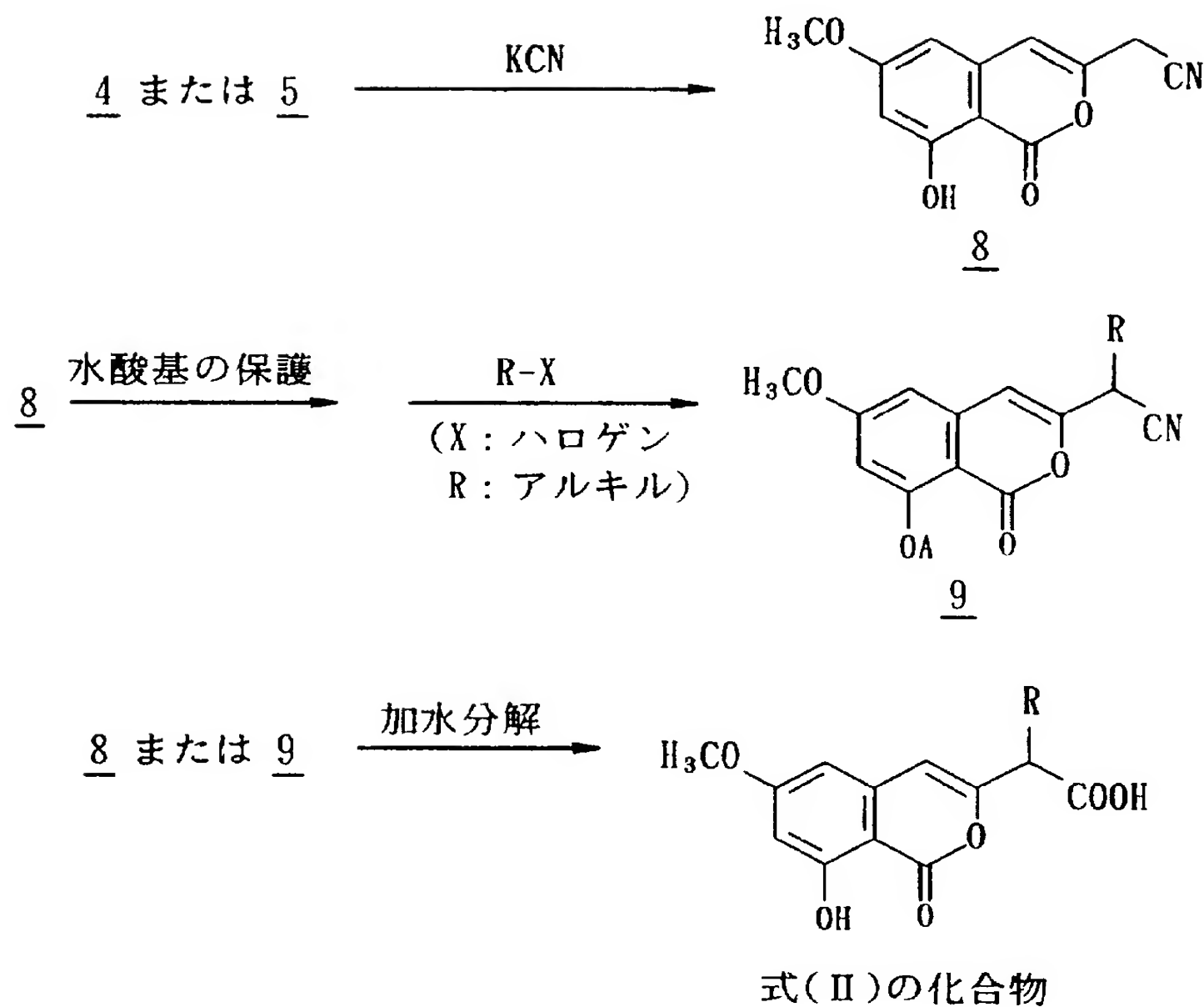
20

反応スキーム I



また、式（Ⅱ）で表される新規化合物は、例えば、下記反応スキームⅡに従って製造することができる。

反応スキーム II



15 より具体的には、上記反応スキーム I の操作は、出発化合物 1 を、例えば、J. Org. Chem., Vol. 54、4218-4220、1989に記載の方法に従って、製造し、次いで前記スキーム I に示される各反応工程はそれ自体既知の方法によって実施することができる。これらの操作は、特開平 5-163263 号公報に詳しいので、必要があれば、その

20 公報を参照されたい。該公報の内容は、引用することによって、本明細書の内容となる。

次に、反応スキーム II は、例えば、式 4 または 5 の 3 位ハロゲン化メチルイソクマリン誘導体を、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフランなどの極性溶媒中、シアン化アルカリ金属

(例、KCNまたはNaCN)と反応させて、式8の対応するニトリル化合物を生成する。次いで、こうして得られたニトリル化合物を、例えば、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、トルエンなどの有機溶媒中シリル化剤(例、tert-ブチルジメチルクロロシラン、tert-ブチルジメチルシリルトリフレートなど)と有機塩基(例、イミダゾール、ジメチルピリジンなどの存在下で反応させて、8位の水酸基を保護した後、塩化メチレン-水系などの反応溶媒中、相間移動触媒およびアルカリ金属水酸化物(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなど)の存在下、ハロゲン化アルキルを反応させて、式9のニトリル化合物を生成することができる。必要により、イソクマリン骨格の8位の水酸基保護を脱離してもよい。以上の反応は、通常、0℃から使用溶媒の還流温度までの温度で、行うことができる。

こうして得られる式8および9、ならびにそれらの水酸基保護基の脱離した化合物は、従来技術文献未載の化合物であり、例えば、本発明に従う式(II)の化合物の合成中間体として有用である。したがって、水酸基保護基としては、上記シリル基に代え、トリメチルシリル、アセチル、プロピオニル、ベンゾイル、メトキシメチル、メトキシエトキシメチルおよびベンジルオキシメチルなどの、基を使用することも可能であり、本発明に従えば、これらの保護基を有する式8および9の化合物も提供される。

式8または9の化合物から、式(II)の化合物の生成は、式8または9の化合物を、例えば、p-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸などの有機酸、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸中で、50～150℃、1～20時間攪拌することにより進行する。この反応により、上記化合

物における水酸基の保護基の脱離とともに、シアノ基が加水分解され、カルボキシル基に転換される。

こうして得られたカルボン酸誘導体の塩は、それ自体既知の造塩反応によって対応する塩基性化合物を用いて生成することができる。

- 5 上記の本発明に従う化合物またはその製薬学的に許容される塩は、詳細には後述するように、例えば、コラーゲン誘発関節炎に対する抑制作用を示し、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、結節性動脈周囲炎、潰瘍性大腸炎および若年性糖尿病などの自己免疫疾患あるいは悪性腫瘍、重症感染症など、主として、免疫調節作用の異常
- 10 に随伴する疾患の予防または治療に使用できるものと思われる。

- また、例えば、マウス背部皮下法において腫瘍細胞が誘導する血管新生の阻害作用を示し、主として、血管新生に随伴する疾患、例えば悪性固形腫瘍の増殖と転移、糖尿病性網膜症、各種慢性炎症、乾癬、角膜移植に伴う血管新生、さらに動脈硬化の予防および治療にも適用できるもの
- 15 と思われる。

- その上、本発明の化合物は、免疫調節作用を有することが知られているMI 43に比べて、生体内で高い安定性を示し、殊に経口投与において、有意に高い生体内安定性をはじめとする、優れた生物学的利用能を示す。しかも、毒性も殆ど見られず、有効かつ安全に使用することが
- 20 できる。

本発明に従う化合物は、それら単独で、例えば、免疫調節作用の異常または血管新生に随伴する疾患の予防または治療用の医薬製剤とすることもできるが、好ましくは製薬学的に許容される助剤と組み合わせて使用することができる。かかる助剤としては、当該技術分野で常用されて

いる、充填剤、増量剤、結合剤、保湿剤、崩壊剤、崩壊抑制剤、表面活性剤、滑沢剤などの希釈剤あるいは賦形剤を挙げることができる。この医薬製剤としては各種の剤形がその治療目的に応じて選択でき、その代表的なものとしては錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁シロップ剤、乳剤、
5 顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤（液剤、懸濁剤など）などを挙げられる。また、本発明に従う化合物の作用を発揮される際の特に好適な投与経路は、経口投与に認められるので、上記の剤形のうち、経口投与用の剤形を好ましいものとして提供できる。

錠剤の形態に成型するに際しては、担体として公知のものを広く使用
10 でき、例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ぶどう糖、尿素、澱粉、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸などの賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ぶどう糖液、澱粉液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドンなどの結合剤、乾燥澱粉、アル
15 ギン酸ナトリウム、寒天末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、澱粉、乳糖などの崩壊剤、白糖、カカオバター、水素添加油などの崩壊抑制剤、第四級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウムなどの吸収促進剤、グリセリン、
20 澱粉などの保湿剤、澱粉、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸などの吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコールなどの滑沢剤などを使用できる。

さらに錠剤は必要に応じて通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠とすること

ができる。丸剤の形態に成型するに際しては、担体としてこの分野で従来公知のものを広く使用でき、例えばぶどう糖、乳糖、澱粉、カカオバター、硬化植物油、カオリン、タルクなどの賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノールなどの結合剤、ラミナラン、寒天などの崩壊剤などを使用できる。

坐剤の形態に成型するに際しては、担体としてこの分野で従来公知のものを広く使用でき、ポリエチレングリコール、カカオバター、高級アルコール高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセリドなどを挙げることができる。

10 注射剤として調製される場合は、液剤および懸濁剤は殺菌され、かつ血液と等張であるものが好ましく、これら液剤、懸濁剤の形態に調製するに際しては、希釈剤としてこの分野において常用されているものが全て使用でき、例えば水、エタノール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、
15 ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類を使用することができる。なお、この場合等張性の溶液を調製するに十分な量の塩化ナトリウム、ぶどう糖あるいはグリセリンを該製剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤などを使用してもよい。また経口
20 投与用には必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤などや他の医薬品を該製剤中に含有させてもよい。

本発明に従う医薬製剤に含められる本発明の上記化合物の量は特に限定されず、広範囲に選択されるが、通常、錠剤、顆粒剤、カプセル剤などの固形剤の場合は、全組成物の1～70重量%、このましくは5～50重量%であり、液剤、注射剤、懸濁剤などの液剤の場合は、0.1～

10重量%である。

本発明の化合物の投与方法は、特に制限はなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別、その他の条件、疾患の程度などに応じた方法で投与される。例えば、錠剤、丸剤、液剤、懸濁シロップ剤、乳剤、顆粒剤および
5 カプセル剤の場合には経口投与される。上述したように、経口投与が好ましいが、注射剤の場合には単独でまたはぶどう糖、アミノ酸などの通常の補液と混合して静脈内投与し、さらに必要に応じて単独で筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与してもよい。坐剤の場合には、直腸内投与される。

10 本発明の化合物の投与量は、用法、患者の年齢、性別、その他の条件、疾患の程度などにより適宜増減することができるが、投与された動物の生体内で薬理学的に有効なレベルを達成できるように、例えば、経口投与の場合、1日当たり0.3～300mg/kg体重、非経口投与の場合、0.03～30mg/kg体重が適当である。

15 本発明に従う化合物のうち、化合物1、化合物2および化合物3を、それぞれ100mg/kg体重でDBA/1Jマウス8匹に経口または腹腔内投与したが、死亡した個体はなく、また毒性症状を示す個体も全く認められなかった。このことより、本発明で使用する化合物は、急性毒性を全く示さないか、示すとしても極めて低いものと思われる。また、
20 化合物1の100mg/kg体重または化合物3の30mg/kg体重を上記マウス8匹にそれぞれ40日間経口投与したが、死亡個体はなく、毒性症状を示す個体も全く認められなかった。このように、本発明の化合物は、亜急性毒性も殆ど示さない。また、その他の本発明に従う化合物も、同様の性状を示すことが推定できるように、式(I)で表される

本発明の化合物は極めて安全に使用することができる。

さらに、具体的には後述するように、本発明に従う化合物は、慢性関節リウマチのモデル動物や血管新生のモデル動物を使用する試験において、著効を示すものの、一方、その他の炎症の起因物質の産生酵素、例えば、シクロオキシゲナーゼ（またはプロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ）やリポキシゲナーゼ、ならびに急性炎症モデルであるカラゲニン浮腫に対して全く阻害作用（もしくは抑制作用）を示さない。したがって、本発明の医薬製剤は、選択性の高い作用効果を示す特徴も有する。また、具体的には後述するように、本発明に従う化合物は、マウスに経口投与した場合、8時間にわたり高い血中濃度を示し、特に、経口投与剤としても優れた特性を有する。

以下、本発明を具体例を挙げてさらに詳細に説明するが、本発明をこれらの態様に限定することを意図するものでない。

作用効果について

15 コラーゲン誘発関節炎抑制作用（その1）

コラーゲン誘発関節炎の発症予防効果を1群5～8匹のDBA/1Jマウスを用い調べた。すなわち、タイプIIコラーゲンを等容量のフロイントのコンプリート・アジュバントと共に乳化して1mg/mlの投与液を調製した。これをマウスの尾根部の皮内に0.1ml投与し感作した。21日後に同様の操作方法で乳化したタイプIIコラーゲンの0.1mlをマウスの腹腔内に投与して追加免疫を行い関節炎を誘発させた。

化合物1を10および30mg/kg体重、それぞれ1日1回、タイプIIコラーゲンの1回目の感作日より43日間経口投与した。また、化合物2および化合物3を1および10mg/kg体重、それぞれ同様に

1 日 1 回、4 3 日間腹腔内投与した。コラーゲン誘発関節炎の抑制効果は、デジタルノギスを用いて後肢の足蹠の厚さを定期的に測定することにより評価した。結果を表 1 に示す。

5 表 1 コラーゲン誘発関節炎抑制作用（その 1）

被検化合物	投与量 (mg/kg/日)	足蹠の厚み(左右の合計、mm) 37日後
対照(無処置)	-	8.02 ± 0.82
化合物 1	10	6.44 ± 0.40**
	30	6.12 ± 0.22**
化合物 2	1	6.81 ± 1.07*
	10	7.19 ± 0.40*
化合物 3	1	7.08 ± 0.16*
	10	6.78 ± 0.98*

15 平均値 ± 標準偏差

対照群との間に有意差 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$

コラーゲン誘発関節炎抑制作用（その 2）

20 上記同様に関節炎を誘発させた動物を 1 群 7 ~ 8 匹使用し、化合物 3 の 1、3 および 10 mg/kg 体重、他の群に、MI 43（比較）の 30 mg/kg 体重を、それぞれ追加免疫後より 21 日間、1 日 1 回経口投与した。コラーゲン誘発関節炎の抑制効果は、下記基準に基づき、実験動物の前肢および後肢の発赤、腫脹、強直の程度により 0 ~ 4 のスコア（最高点 16）を用いて評価した。

スコア

0 : 全く症状が認められない

1 : 四肢の指など小関節が1本のみ発赤、腫脹を示す

2 : 小関節2本以上、あるいは手首、足首などの比較的大きな関節が
5 発赤、腫脹を示す

3 : 1本の手または足全体が発赤、腫脹を示す

4 : 1本の手または足の全体的な腫脹が最大限に達し、しかも関節の
強直を伴う。

結果を下記表2にまとめて示す。

10

表2 コラーゲン誘発関節炎抑制作用 (その2)

15

被検化合物	投与量(mg/kg/日)	34日後のスコア
対照(無処置)	-	9.25 ± 1.35
化合物 3	1	6.50 ± 1.49
	3	5.00 ± 1.61
	10	3.50 ± 0.63**
MI43(比較)	30	5.29 ± 1.77

平均値 ± 標準誤差

20

対照群との間に有意差 ** : $p < 0.01$

以上の表から、本発明に従う化合物は、コラーゲン誘発関節炎を有意に抑制するとともに、経口投与においては、比較化合物 (MI43) が 30 mg/kg 体重の投与においても関節炎スコアを有意に抑制しない

のにもかかわらず、10 mg/kg 体重の投与において関節炎スコアを有意に抑制することがわかる。

マウス背部皮下法を用いた血管新生阻害作用

マウス背部皮下法を用いて、マウス移植腫瘍 S 1 8 0 が誘導する腫瘍
5 血管新生に対する本発明の化合物 1 および 3 の抑制効果を、それぞれ検討した。すなわち、ミリポアリングの両面にポアサイズ 0.45 μ m のミリポアフィルターを貼って作成したチャンバー内に 1×10^7 個の S 1 8 0 細胞を注入した。注入口を塞いだ後、このチャンバーを ICR 系雌性マウス（9～10 週齢）の背部皮下に作成したエアーサック内に移植した。被検化合物および溶媒対照の 0.5% カルボキシメチルセルロース溶液を移植当日から 5 日間経口投与した。移植 5 日目に皮膚を剥離し、皮膚側のチャンバー接触部分にリングと同形の内径 10 mm の O リングをおき、実体顕微鏡下にて観察し、さらに写真撮影を行った。

得られた写真より血管新生の強度を腫瘍血管に特有な長さ 3 mm 以上の
15 の屈曲した血管の数に基づいて 0、1、2、3 の 4 段階に分け、下記基準に基づいてスコア化した。

スコア

- 0 : 腫瘍血管の数が 0
- 1 : 腫瘍血管の数が 1 本
- 20 2 : 腫瘍血管の数が 2 本
- 3 : 腫瘍血管の数が 3 本以上

化合物 1 を使用した場合の結果を下記表 3 に示す。

表3 マウス背部皮下法における血管新生阻害作用（化合物1）

	血管新生スコア 平均値±標準誤差	n	危険率
5	A 0.33 ± 0.17	9	p < 0.001
	B 3.00 ± 0.00	9	
	C 1.67 ± 0.53	9	p < 0.05

A：リン酸緩衝液注入群（正常群）

B：S180腫瘍細胞注入＋溶媒投与群（対照群）

C：S180腫瘍細胞注入＋化合物1 100mg/kg体重投与群

10

化合物3を使用した場合の結果を下記表4に示す。

表4 マウス背部皮下法における血管新生阻害作用（化合物3）

	血管新生スコア (平均値±標準誤差)	n	危険率
15	A 0.27 ± 0.27	11	**
	B 2.93 ± 0.07	14	
	C 2.40 ± 0.4	10	*
	D 1.55 ± 0.43	11	
	E 0.86 ± 0.33	14	**
20	F 0.86 ± 0.38	14	
	G 1.09 ± 0.39	11	**

A：リン酸緩衝液注入群（正常群）

B：S180腫瘍細胞注入＋溶媒投与群（対照群）

C：S180腫瘍細胞注入＋化合物3 0.3mg/kg投与群

D : S 1 8 0 腫瘍細胞注入 + 化合物 3 1 . 0 m g / k g 投与群

E : S 1 8 0 腫瘍細胞注入 + 化合物 3 3 m g / k g 投与群

F : S 1 8 0 腫瘍細胞注入 + 化合物 3 1 0 m g / k g 投与群

G : S 1 8 0 腫瘍細胞注入 + M I 4 3 1 0 0 m g / k g 投与群 (比較)

5 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Student's t 検定)

以上の表 3 および 4 から、化合物 1 は 1 0 0 m g / k g 体重の経口投与で、化合物 3 は 1 ~ 1 0 m g / k g 体重の経口投与で、マウス背部皮下法において腫瘍細胞 S 1 8 0 が誘導する血管新生を有意に抑制することがわかる。

10 経口投与した場合の被検化合物の血漿中のレベル

化合物 3 および M I 4 3 の 2 5 m g / k g を絶食させた雄性 I C R 系マウス (体重 1 8 ~ 2 1 g) にそれぞれ経口投与した。投与後 5、3 0 分、4、8 および 2 4 時間にマウスから採血を行い、各血液を遠心分離し血漿を得た (化合物 3 3 匹 / 時点、M I 4 3 5 匹 / 時点)。得られた各血漿を以下に示す前処理を行い高速液体クロマトグラフィー (H P L C) により分析を行った。血漿 0 . 2 m l に対し飽和硫酸アンモニウム水溶液 1 . 8 m l およびメタノール 1 . 0 m l を加え混和後、酢酸エチル 3 . 5 m l を加え振盪した。その後、遠心分離し酢酸エチル層を分取し、更に、水層に酢酸エチル 3 . 5 m l を加え振盪、遠心分離し酢酸エチル層を先に分取した酢酸エチル層と合わせ減圧下乾固した。これを 5 0 % アセトニトリル水溶液 0 . 2 m l で再溶解し H P L C の試料とした。

20 H P L C [東ソー (株) C C T D システム] の分析条件は、Y M C A - 3 1 2 カラム (O D S 6 × 1 5 0 m m (株) ワイエムシー) を用い、化合物 3 の場合は移動相としてアセトニトリル : 0 . 1 % T F A 水

溶液 = 60 : 40、M I 4 3 の場合は移動相としてアセトニトリル : 0.1 % T F A 水溶液 = 40 : 60 をそれぞれ使用し流速 1.0 ml / min、検出 UV 244 nm で行った。

化合物 3 および M I 4 3 の血漿中濃度を表 5 および 6 に示し、それぞれの経時的変化を図 1 および図 2 に示す。化合物 3 の未変化体は、投与後 30 分に最高値を示した後、減少を示したが、8 時間においても高い血漿中濃度がみられた。しかし、24 時間では非常に低い値であった。一方、M I 4 3 の未変化体は、5 分後に最高値を示した後、急激な減少を示した。その他 M I 4 3 の代謝物が 5 種認められた。

表 5 化合物 3 の血漿中濃度

(未変化体濃度)		(μg/ml)			
時間	5(分)	30(分)	4(時)	8(時)	24(時)
15 平均値	122.54	131.34	63.01	38.41	0.19
標準偏差	16.11	14.01	8.44	6.87	0.12
(未同定代謝物)					
平均値	2.61	12.78	26.28	30.29	0.80
標準偏差	2.29	3.78	5.12	4.19	0.36

表6 M I 4 3 (比較) の血漿中濃度

(未変化体濃度)		($\mu\text{g/ml}$)			
時間	5(分)	30(分)	4(時)	8(時)	
5	平均値	0.811	0.155	0.048	-
	標準偏差	0.225	0.059	0.016	-
代謝物 A					
10	平均値	6.23	1.71	0.184	0.102
	標準偏差	2.68	0.622	0.123	0.076
代謝物 B					
10	平均値	2.15	0.466	-	-
	標準偏差	0.637	0.106	-	-
代謝物 C					
15	平均値	6.14	1.91	0.329	0.345
	標準偏差	1.795	1.045	0.055	
代謝物 D					
15	平均値	0.177	0.063	-	-
	標準偏差	0.074	0.021	-	-
未同定代謝物					
20	平均値	0.292	0.142	-	-
	標準偏差	0.093	0.028	-	-
代謝物 A : 3 位の - C O O H 変換体					
代謝物 B : 8 位水酸基の硫酸抱合体					
代謝物 C : 8 位水酸基のグルクロン酸抱合体					
代謝物 D : 6 位の - O H 変換体					
- : 検出限界以下					

カラゲニン浮腫に対する作用

カラゲニン浮腫に対する効果を1群6～7匹のICR系マウスを用いて調べた。すなわち、化合物3の3および30 mg/kg体重または陽性対照薬のインドメタシンの20 mg/kg体重を経口投与し、30分
5 後に1%カラゲニン液の25 μ lを右後肢足蹠皮下に注射した。カラゲニン投与2時間後に足蹠の厚みをデジタルノギスで測定し、投与前の厚みより浮腫率(%)を算出した。結果を表7に示す。

表7 カラゲニン浮腫に対する作用

被検化合物	投与量(mg/kg)	浮腫率(%)
対照(5%カルボキシメチルセルロース溶液)	-	47.4 \pm 2.8
化合物 3	3	41.7 \pm 3.1
	30	46.1 \pm 4.2
インドメタシン	20	18.5 \pm 3.5**

平均値 \pm 標準誤差

対照群との間に有意差 ** $p < 0.01$

$$\text{浮腫率}(\%) = \frac{\text{投与後の厚み} - \text{投与前の厚み}}{\text{投与前の厚み}} \times 100$$

20

表より、化合物3の3および30 mg/kgはカラゲニン浮腫に対して全く抑制効果を示さないことがわかる。一方、抗炎症薬のインドメタシン20 mg/kgは有意な抑制効果を示している。

シクロオキシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼに対する作用

シクロオキシゲナーゼ(またはプロスタグランジンエンドペルオキシ

ドシンターゼ) 活性に対する化合物 3 の阻害作用を Evans らの方法
 (Biochemical Pharmacology 36 : 2035-2037、1987)
 に準じて調べた。すなわちヒツジの精のう腺より得られた酵素標品を 5
 00 μ M アラキドン酸および 300 μ M 化合物 3 の存在下で 27℃、1.
 5 5 分間インキュベートした。この反応液にトリクロル酢酸を加えて反応
 を停止させ、532 nm の吸光度を測定した。

また、5-リポキシゲナーゼに対する阻害作用を Egan らの方法
 (Journal of Biological Chemistry 260 : 11554-11559、
 1985) に準じて調べた。ラットの好塩基性白血病細胞 (RBL-1)
 10 より得られた酵素を用いた。酵素標品と 30 μ M 化合物 3 を 5 分間、室
 温でインキュベートした後、リノレン酸を加えた。その後、8 分間、室
 温でインキュベートした後、水酸化ナトリウム液を加えて反応を停止さ
 せ、234 nm の吸光度を測定した。

結果を下記表 8 に示す。

15

表 8 シクロオキシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼ活性に対する作用

被検化合物	抑制率 (%)	
	シクロオキシゲナーゼ	5-リポキシゲナーゼ
化合物 3	-4.0	21.0

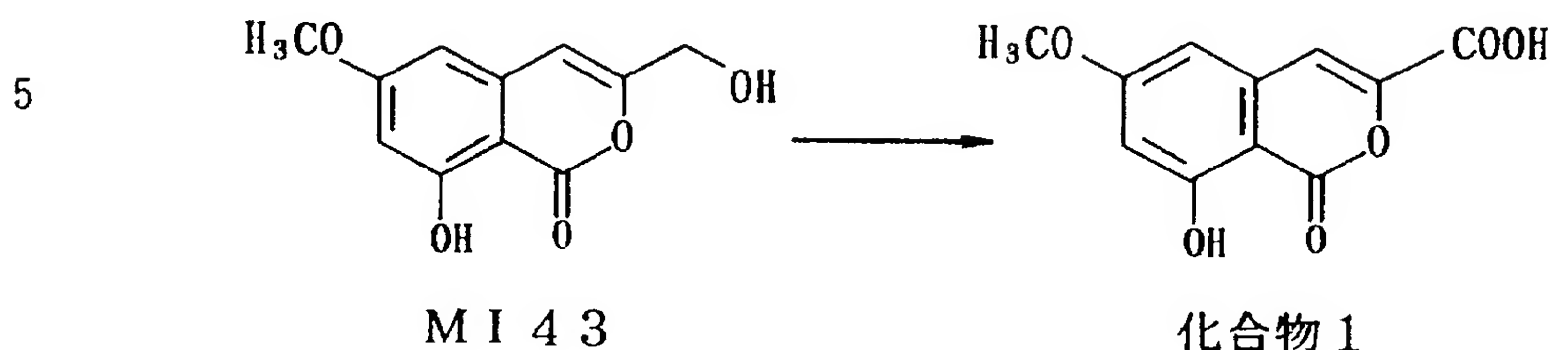
20

n = 2

表より、化合物 3 の 30 μ M および 300 μ M は、どちらもシクロオ
 キシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼに対して阻害作用を示さないこと
 がわかる。

[製造例]

例 1 : 8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベン
ゾピラン-3-カルボン酸 (化合物 1) の製造



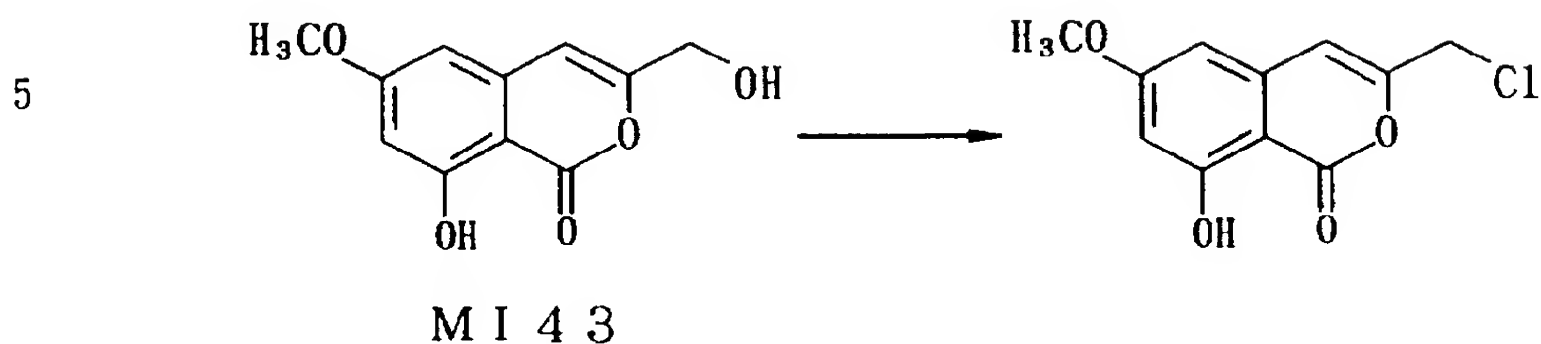
MI 43 3.60 g (16.20 mmol) をアセトン 100 ml に
10 溶解し、氷冷下に Jones 試薬 14 ml を加え、0℃で10分間攪拌
した。反応液に水 500 ml を加え、酢酸エチル 1000 ml、500
ml で抽出した。有機層を 20%食塩水 200 ml で3回洗浄した。水
層を酢酸エチル 200 ml で再抽出し、20%食塩水 100 ml で2回
洗浄した。抽出層および再抽出層を合わせた後、5%炭酸水素ナトリウ
ム水溶液 300 ml で4回、逆抽出した。水を加え、全体を 1400 ml
15 1とした後、濃塩酸を加え、pH 3.0に調整した。生じた白色沈澱を
濾取し真空乾燥した後、熱アセトンに溶解、濾過して不溶物を除去し、
濾液を濃縮した。得られた固体を 10%メタノール水溶液 40 ml に懸
濁し、10分間加熱還流した後、氷冷した。生成した白色結晶を濾過し、
20 減圧乾燥して、化合物 1 を 2.36 g (収率 62%) 得た。

¹H-NMR スペクトル (400 MHz、DMSO-d₆) : 主要な吸
収は、下記のとおりである。

δ TMS (ppm) : 3.88 (3H, s)、6.70 (1H, d, J =
2.0 Hz)、6.95 (1H, d, J = 2.0 Hz)、7.59 (1H,

s)、10.98 (1H, s)

例2：3-クロロメチル-8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキ
ソ-1H-2-ベンゾピランの製造

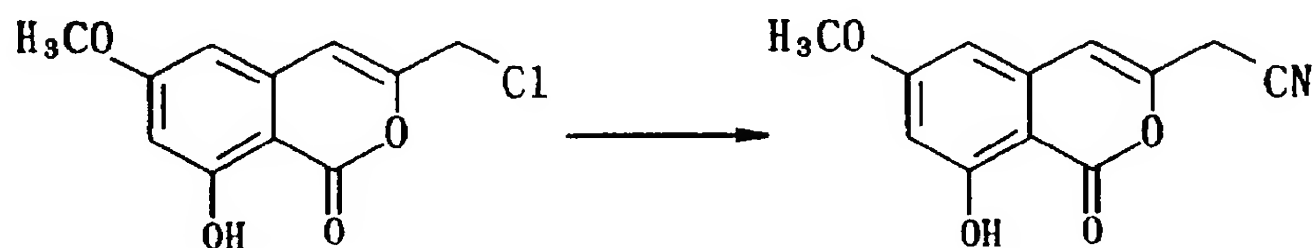


MI 43 5.00 g (22.50 mmol) とトリフェニルホスフィ
ン 10.0 g (38.25 mmol) をテトラヒドロフラン 50 ml に溶
10 解し、四塩化炭素 30 ml (244 mmol) を加え、30 分間加熱還
流した。反応液を減圧濃縮し、得られた残渣 18.46 g にエタノール
47 ml を加え溶解して再結晶化し、標記化合物 4.72 g (収率 87
%) を得た。

15 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (400 MHz、 CDCl_3) : 主要な吸収は、
下記のとおりである。

δTMS (ppm) : 3.88 (3H, s)、4.33 (2H, s)、6.
40 (1H, d, $J = 2.4 \text{ Hz}$)、6.51 (1H, s)、6.53 (1
H, d, $J = 2.4 \text{ Hz}$)、11.00 (1H, s)

20 例3：3-シアノメチル-8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキ
ソ-1H-2-ベンゾピランの製造

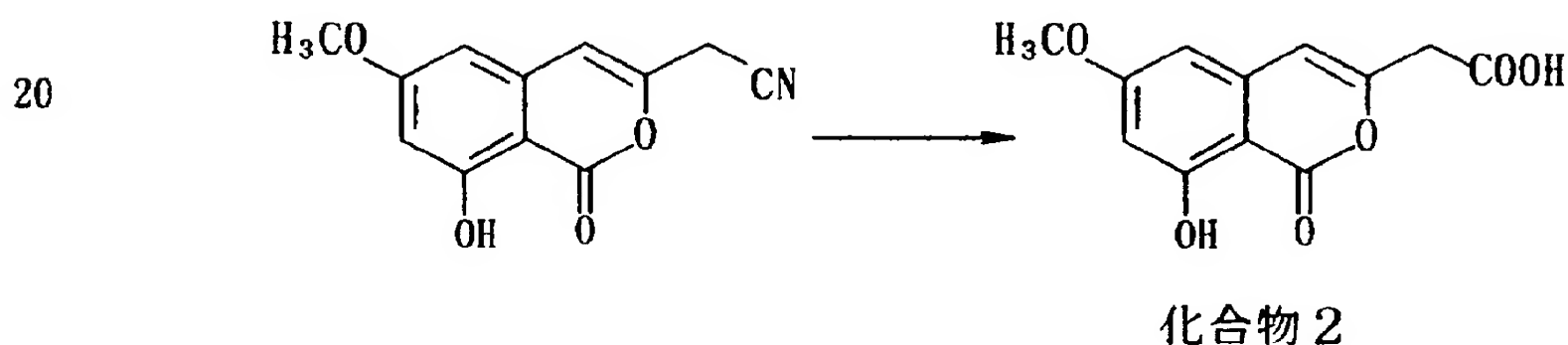


例 2 で得た 3-クロロメチル-8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-
 オキソ-1H-2-ベンゾピラン 5.00 g (20.78 mmol) をジ
 メチルスルホキシド 70 ml に溶解し、シアン化ナトリウム 4.29 g
 (83.11 mmol) を加え、窒素雰囲気下、15℃で30分間攪拌
 5 した。反応液に水 300 ml を加え、酢酸エチル 600 ml、250
 ml × 3 で抽出した。有機層を 20% 食塩水 300 ml で 3 回洗浄した
 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、約 300 ml まで減圧濃縮した。こ
 の溶液に活性炭 3 g を加え、10 分間加熱還流した。セライト濾過によ
 り活性炭を除去し、濾液と洗液を約 100 ml まで濃縮した。析出した
 10 結晶を加熱還流して溶解した後、氷冷し、再析出した結晶を濾過して、
 標記化合物 4.08 g (収率 84%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (400 MHz、DMSO- d_6) : 主要な吸
 収は、下記のとおりである。

δ TMS (ppm) : 3.65 (2H, d, $J = 1.1$ Hz)、3.89
 15 (3H, s)、6.42 (1H, d, $J = 2.4$ Hz)、6.54 (1H,
 d, $J = 2.4$ Hz)、6.58 (1H, s)、10.82 (1H, s)

例 4 : (8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベ
 ンゾピラン-3-イル) 酢酸 (化合物 2) の製造



例 3 で得た 3-シアノ-8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ

ー 1 H - 2 - ベンゾピラン 1.50 g (6.49 mmol) を酢酸 8 ml
 および濃塩酸 8 ml に懸濁し 70 °C で 5.5 時間攪拌した。反応液を濃縮し、酢酸エチル 150 ml で抽出した。有機層を 20 % 食塩水 50 ml で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧濃縮し、次
 いで真空乾燥して黒色粉末を得た。これにエタノール 20 ml、活性炭
 0.3 g を加え、30 分間加熱還流した。活性炭を除き、冷却して生成
 した白色結晶を濾過し、減圧乾燥して、標記化合物 (化合物 2) 1.3
 0 g (収率 80 %) を得た。

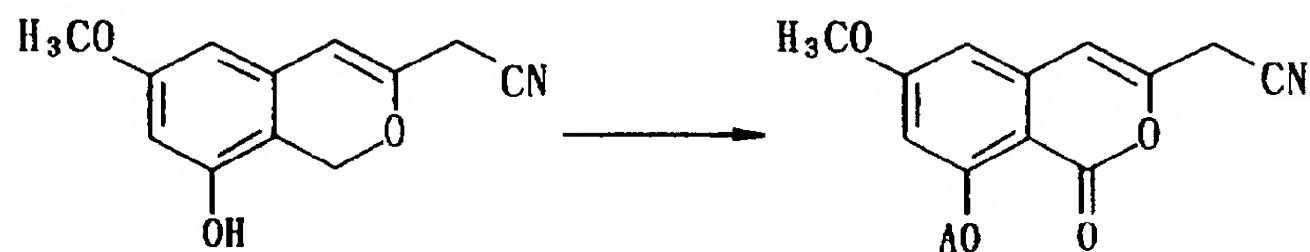
IR 吸収スペクトル (KBr) : 特徴的な吸収は、下記のとおりである (単位 : cm^{-1})。

ν_{max} : 1238、1574、1626、1651、1690、1723

^1H -NMR スペクトル (400 MHz、DMSO- d_6) : 主要な吸収は、下記のとおりである。

δ_{TMS} (ppm) : 3.62 (2H, s)、3.86 (3H, s)、6.56 (1H, d, $J = 2.4 \text{ Hz}$)、6.63 (1H, d, $J = 2.4 \text{ Hz}$)、6.66 (1H, s)、10.90 (1H, s)

例 5 : 8-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-3-シアノメチル-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピランの製造



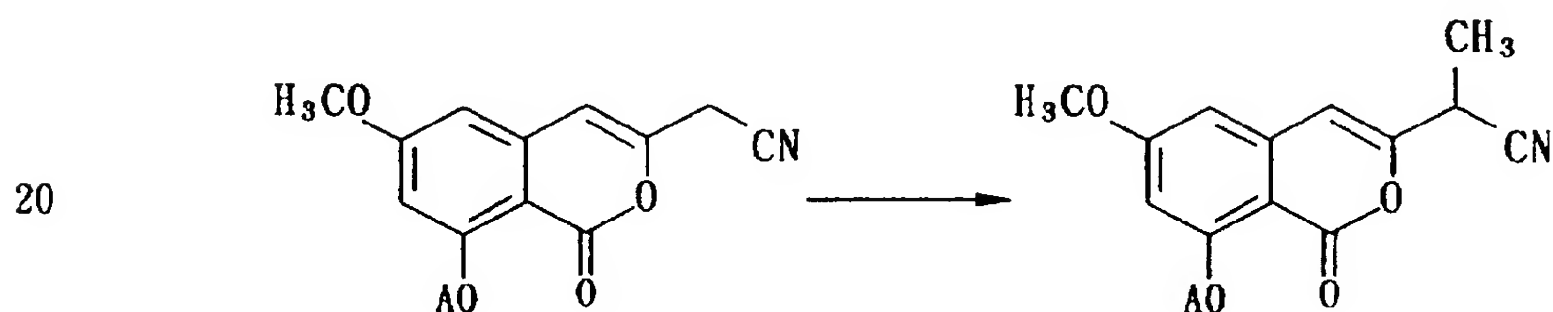
(A: tert-ブチルジメチルシリル)

例3で得た3-シアノメチル-8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン2.70g (11.68mmol)をジメチルホルムアミド25mlに溶解し、氷冷下、イミダゾール1.59g (23.4mmol)、塩化tert-ブチルジメチルシリル2.82g (18.7mmol)を順次加え、2時間攪拌した。反応終了後、反応液にトルエンを加え、10%食塩水50mlで1回、20%食塩水50mlで2回洗浄した。トルエン層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧濃縮し、次いで真空乾燥して得られた残渣4.08gをエタノール20mlより再結晶化して、標記化合物3.77g (収率93%)を得た。

¹H-NMRスペクトル (400MHz、CDCl₃) : 主要な吸収は、下記のとおりである。

δTMS (ppm) : 0.28 (6H, s)、1.05 (9H, s)、3.59 (2H, d, J = 1.6Hz)、3.87 (3H, s)、6.45 (3H, m)

例6 8-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-3-(1-シアノエチル)-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピランの製造



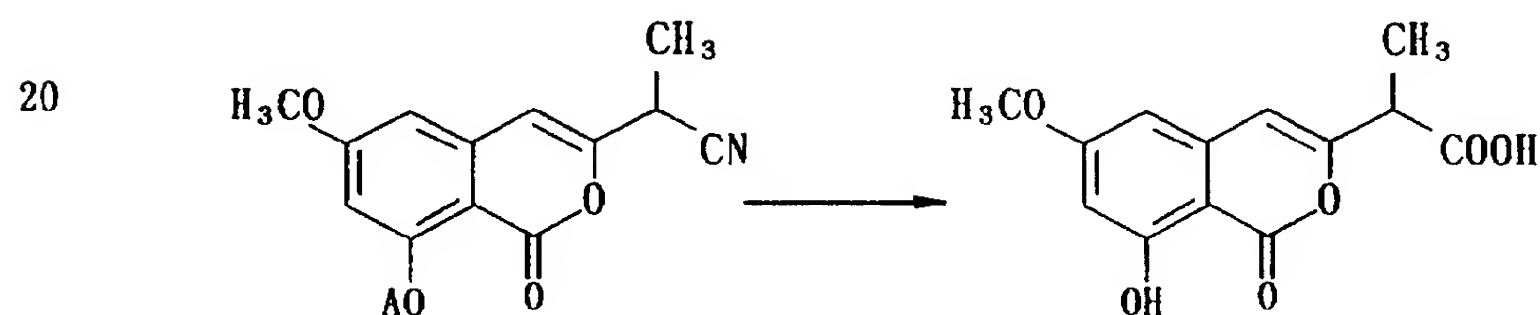
例5で得た8-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-3-シアノメチル-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン2.50g (7.24mmol)を塩化メチレン80mlに溶解し、1M水酸化

ナトリウム水溶液 100 ml を加え、0℃に冷却した。激しく攪拌しながら、フッ化テトラブチルアンモニウム 584 mg (1.81 mmol) を加え、次いでヨウ化メチル 0.92 ml (14.47 mmol) を含む塩化メチレン 10 ml を加え、0℃で1時間攪拌した。さらにヨウ化メチル 0.92 ml (14.47 mmol) を含む塩化メチレン 10 ml を加え、30分間攪拌した。反応終了後、塩化メチレン層を分離し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧濃縮して得た残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ワコーゲル C-200、130 g、展開系：ヘキサン／酢酸エチル＝5／1）にて精製し、標記化合物 1.01 g（収率 39%）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル（400 MHz、 CDCl_3 ）：主要な吸収は、下記のとおりである。

δTMS (ppm) : 0.28 (6H, s)、1.05 (9H, s)、1.68 (3H, d, $J = 7.2 \text{ Hz}$)、3.73 (1H, q, $J = 7.2 \text{ Hz}$)、3.87 (3H, s)、6.45 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$)、6.46 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$)、6.48 (1H, s)

例7：2-（8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-3-イル）プロピオン酸（化合物3）の製造



例6で得た8-tert-ブチルジメチルシリルオキシ-3-（1-シアノエチル）-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン

1.63 g (4.72 mmol) を酢酸 5 ml および濃塩酸 5 ml に溶解し 70℃ で 12 時間攪拌した。反応液を冷却し、水 10 ml を加え、結晶を析出させた。これを濾取、水洗し、減圧乾燥して標記化合物の粗結晶 1.21 g を得た。これにエタノール 8 ml を加え、加熱還流した後、
5 冷却して生成した淡黄色結晶を濾過し、減圧乾燥して、標記化合物（化合物 3） 1.04 g（収率 80%）を得た。

¹H-NMR スペクトル（400 MHz、DMSO-d₆）：主要な吸収は、下記のとおりである。

δ TMS (ppm) : 1.40 (3H, d, J = 7.2 Hz)、3.70
10 (1H, q, J = 7.2 Hz)、3.86 (3H, s)、6.56 (1H, d, J = 1.6 Hz)、6.67 (1H, d, J = 1.6 Hz)、6.68 (1H, s)、10.90 (1H, s)

例 8：カプセル剤の製造例

例 1 に記載した方法で調製した化合物 1 を 20 mg、乳糖を 180
15 mg、ステアリン酸マグネシウム 1 mg（いずれも 1 カプセル当り）の割合で均一に混合し、得られた混合物を 1 カプセル当り約 200 mg、3 号硬ゼラチンカプセルにつめる。

例 9：錠剤の製造例

例 4 に記載した方法で調製した化合物 2 を 10 mg、乳糖を 120
20 mg、とうもろこし澱粉 57 mg（いずれも 1 錠当り）をよく混合する。混合物を 10% 澱粉糊液と混ぜて粒状化し、これにとうもろこし澱粉 60 mg とステアリン酸マグネシウム 3 mg（いずれも 1 錠当り）を加えてよく混合し、直径 8 mm、重量約 250 mg の錠剤に成型する。

例 10：懸濁シロップ剤の製造例

例 7 に記載した方法で調製した化合物 3 を 1 0 0 m g 、カルボキシメ
チルセルロースナトリウム 1 0 0 m g 、パラオキシ安息香酸メチル 1 4
m g 、パラオキシ安息香酸エチル 6 m g 、単シロップ 4 0 m l 、精製水
1 0 m l （いずれも 1 瓶当り）をよく混合、懸濁化し、投薬瓶に入れる。

5 産業上の利用可能性

本発明に従えば、免疫調節作用および血管新生阻害作用に優れた化合
物または医薬製剤が提供される。したがって、本発明は医薬製造業にお
いて利用されうる。

10

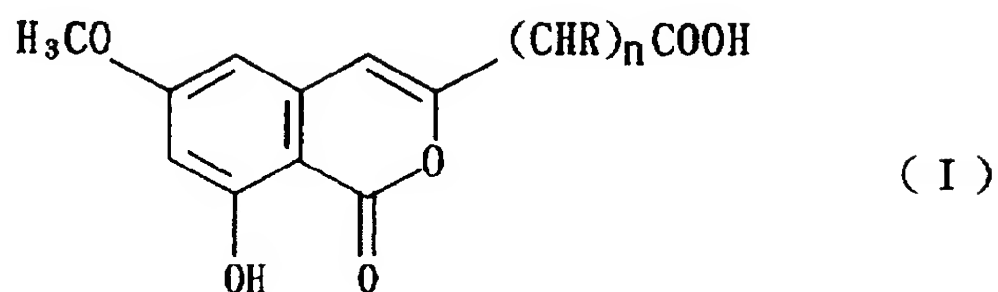
15

20

請求の範囲

1. 製薬学的に許容される助剤と、下記式 (I)

5



(上式中、Rは水素原子またはC₁₋₆アルキル基を表し、nは整数0または1である)

10 で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩の薬理的に有効量とを、含んでなる医薬製剤。

2. 製剤が、免疫調節作用の異常または血管新生に随伴する疾患の予防または治療用のものである、請求の範囲第1項記載の医薬製剤。

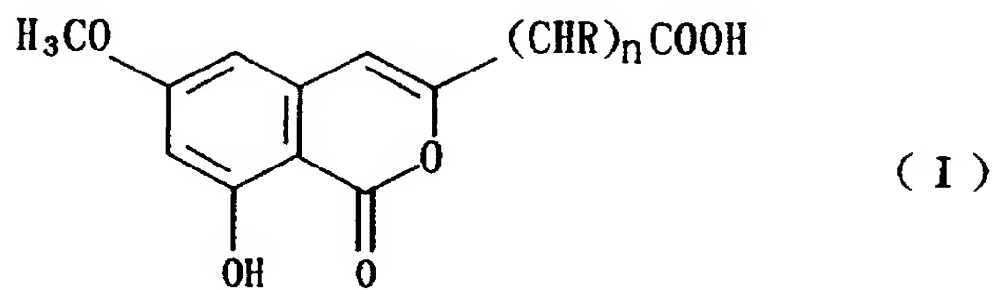
3. nが整数1である請求の範囲第1項又は第2項記載の医薬製剤。

15 4. 疾患が自己免疫疾患である請求の範囲第2項または第3項記載の医薬製剤。

5. 製剤が経口剤形である請求の範囲第1～4項のいずれかに記載の医薬製剤。

6. 免疫調節作用の異常または血管新生に随伴する疾患の予防または治療用の医薬製剤を調製するための、式 (I) :

20



(上式中、Rは水素原子またはC₁₋₆アルキル基を表し、nは整数0

または 1 である)

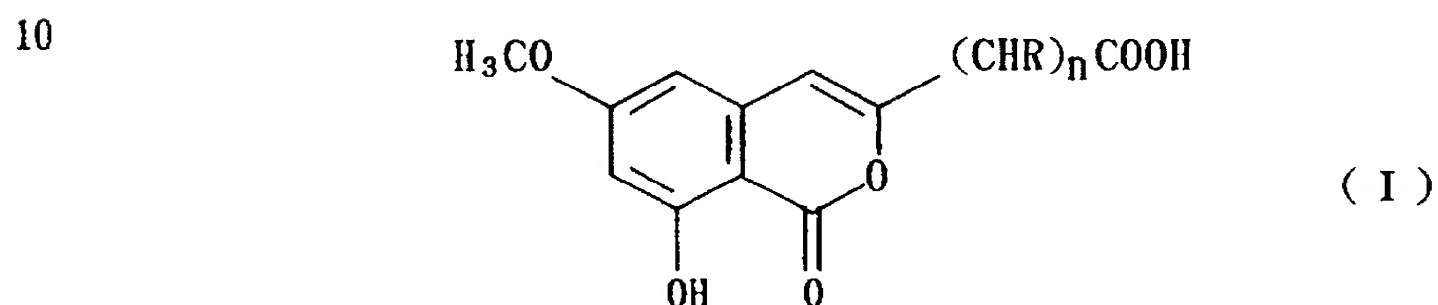
で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩の使用。

7. n が整数 1 である請求の範囲第 6 項記載の使用。

8. 疾患が自己免疫疾患である請求の範囲第 6 項または第 7 項記載の使用。

9. 製剤が経口剤形である請求の範囲第 6 ～ 8 項のいずれかに記載の使用。

10. 免疫調節作用の異常または血管新生に伴随する疾患の予防または治療方法であって、下記式 (I)



(上式中、 R は水素原子または C_{1-6} アルキル基を表し、 n は整数 0

15 または 1 である)

で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩の薬理的に有効量を、哺乳動物に投与する工程を含んでなる方法。

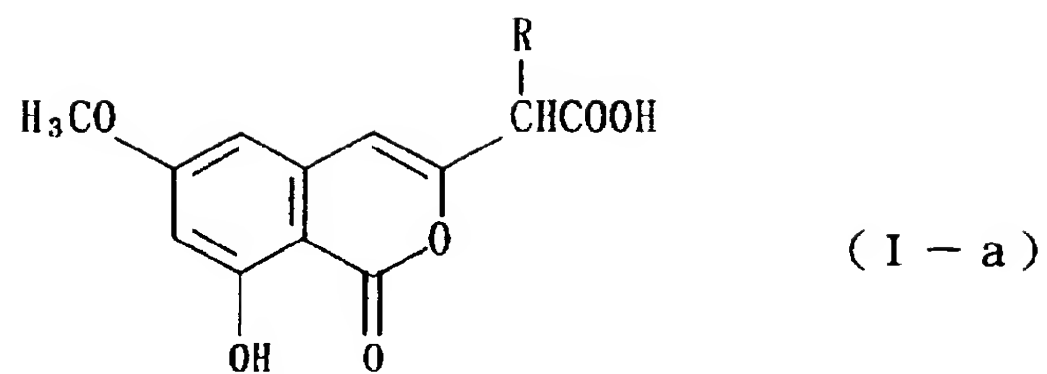
11. n が整数 1 である請求の範囲第 10 項記載の方法。

12. 投与が経口投与である請求の範囲第 10 項記載の方法。

20 13. 疾患が自己免疫疾患である請求の範囲第 10 項記載の方法。

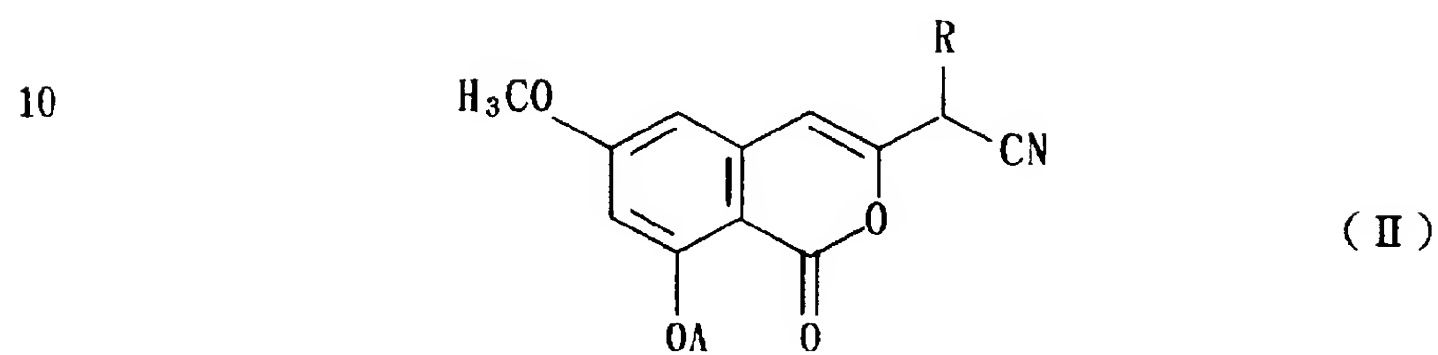
14. n が整数 1 であり、投与が経口投与であり、そして疾患が自己免疫疾患である請求の範囲第 10 項記載の方法。

15. 下記式 (I-a)



(上式中、Rは水素原子またはC₁-₆アルキル基である)
で表される化合物またはその塩。

16. 下記(II)



(上式中、Rは水素原子またはC₁-₆アルキル基であり、そしてAは
15 水素原子または保護基である)
で表される化合物。

20

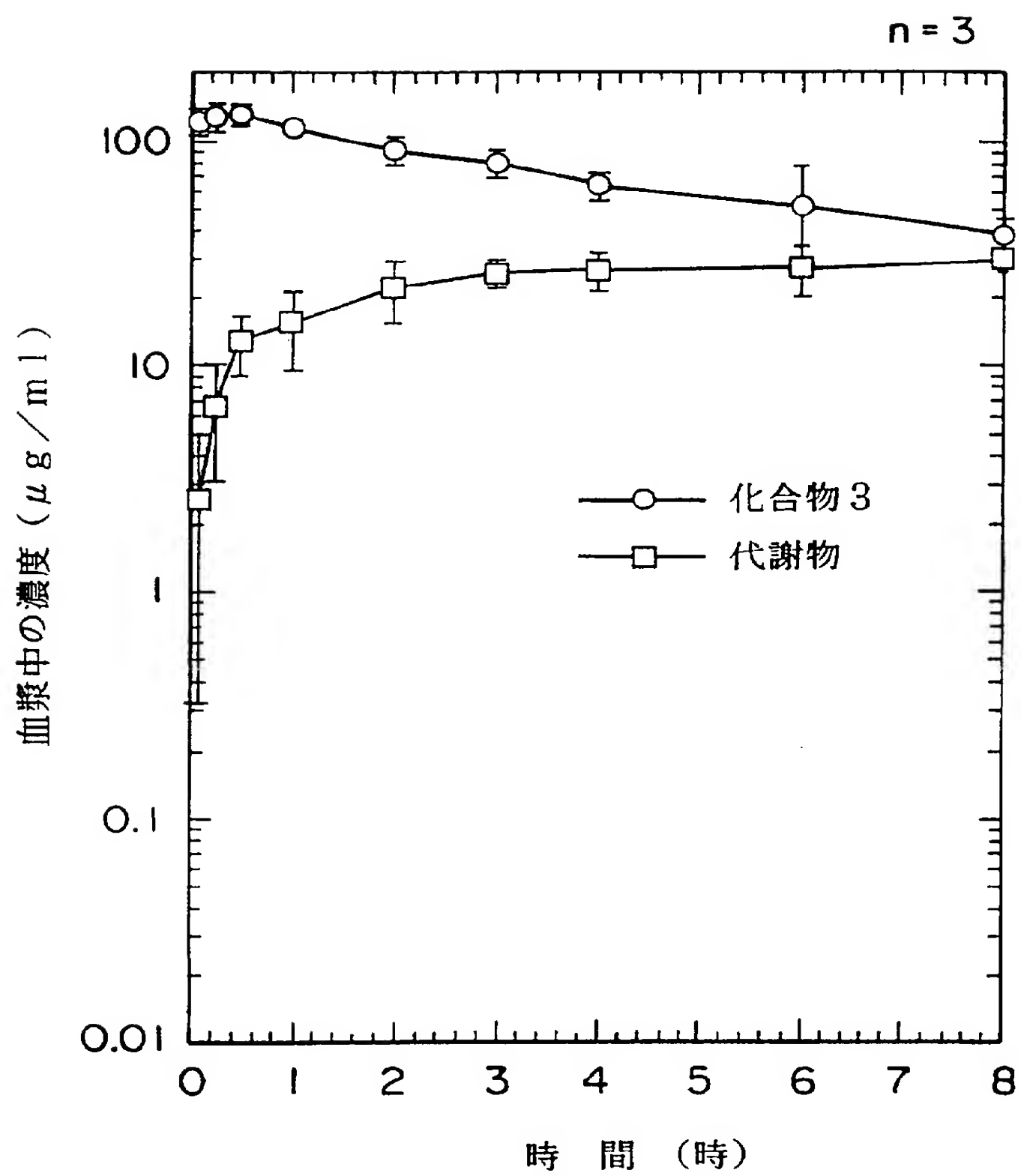


図 1

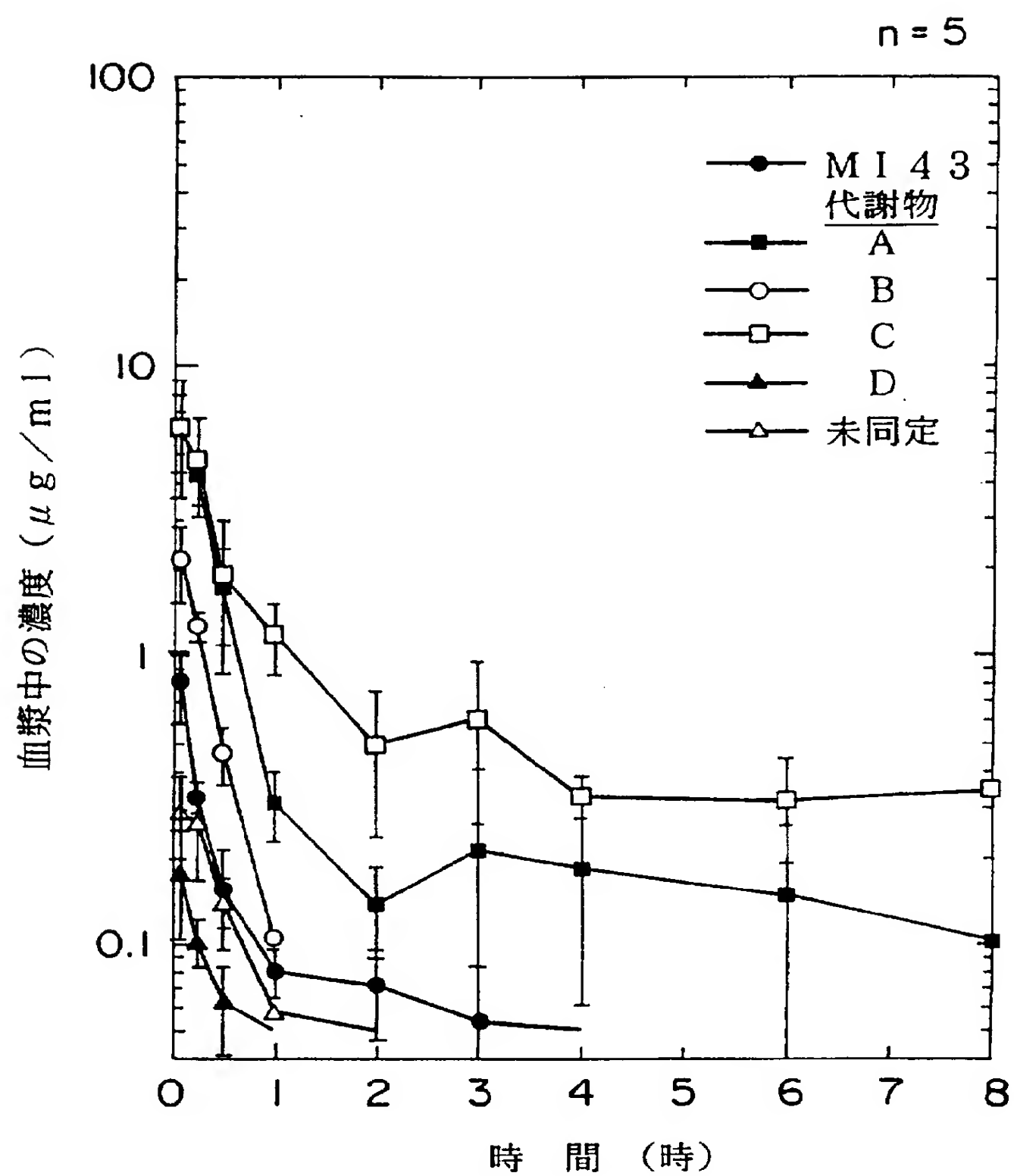


図 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/01657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07D311/76, A61K31/35

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07D311/76, A61K31/35

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 3-2177, A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyukai), January 8, 1991 (08. 01. 91) & EP, 401138, A & US, 5096924, A	1 - 16
A	JP, 4-112884, A (Mercian Corp.), April 14, 1992 (14. 04. 92) (Family: none)	1 - 16
A	JP, 5-97841, A (Mercian Corp.), April 20, 1993 (20. 04. 93) (Family: none)	
A	JP, 6-183966, A (Mercian Corp.), July 5, 1994 (05. 07. 94) (Family: none)	1 - 16
A	Chem. Pharm. Bull., 20(10) (1972), p. 2276-2278	15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
September 2, 1996 (02. 09. 96)

Date of mailing of the international search report
September 17, 1996 (17. 09. 96)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/01657

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 10 - 14
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 10 to 14 pertain to methods for treatment of the human or animal body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ C07D311/76, A61K31/35

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ C07D311/76, A61K31/35

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 3-2177, A (財団法人微生物化学研究会) 8. 1月. 1991 (08. 01. 91) & E P, 401138, A & U S, 5096924, A	1-16
A	J P, 4-112884, A (メルシャン株式会社) 14. 4月. 1992 (14. 94. 92) ファミリーなし	1-16
A	J P, 5-97841, A (メルシャン株式会社) 20. 4月. 1993 (20. 04. 93) ファミリーなし	1-16

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 09. 96

国際調査報告の発送日

17.09.96

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富士 美香

4 C

9360

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 6-183966, A (メルシャン株式会社) 5. 7月. 1994 (05. 07. 94) ファミリーなし	1-16
A	Chem. Pharm. Bull., 20 [10] (1972) p. 2276-2278	15

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

- 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの2の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。